

Untersuchungen über den Einfluß einer
Butazolidin-Salbe auf die
Infusionsgeschwindigkeit von Kochsalzlösung
mit und ohne Hyaluronidase beim Menschen

von

JOSEF SCHEUNGRAB

München 1965

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. W. Seitz)

Untersuchungen über den Einfluß einer Butazolidin-Salbe
auf die Infusionsgeschwindigkeit von Kochsalzlösung mit und
ohne Hyaluronidase beim Menschen

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität in München

vorgelegt von

Josef Scheungrab

aus

München

1965

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. O. Hug

Tag der mündlichen Prüfung: 5.1.1965

Meiner Mutter
und
meinem Vater +



Inhaltsverzeichnis

Problematik	5
Eigene Versuche	7
Methodik	7
Versuchsreihen	9
Abbildungen	20
Diskussion	35
Zusammenfassung	36
Literaturverzeichnis	37



Problematik

H o f f m a n und D u r a n - R e y n a l s (1) entdeckten 1930, daß sich Farbstoffe und Bakterien viel stärker im Gewebe verteilen, wenn man vorher Testesextrakte injiziert. Sie sprechen darum von einem Spreading-Faktor. Später hat sich gezeigt, daß die Wirkung eines solchen Testesextraktes auf einem Enzym - Hyaluronidase - beruht. C h a i n und D u t h i e (2) fanden 1939, daß Spreading-Faktor und Hyaluronidase identisch sind. Die verteilende Wirkung der Hyaluronidase ist am meisten in der Epidermis von Ratten und Kaninchen untersucht. Man hat jedoch festgestellt, daß dieselbe Wirkung auch in den subcutanen Geweben und - wenn auch in geringerem Grade - im Muskelgewebe zustande kommt. M a t h i e s (3,4) hat in früheren Arbeiten die Wirkungsweise in vivo hyaluronidase-hemmender Substanzen (Antirheumatica) untersucht. Eine hyaluronidase-hemmende Wirkung von Phenylbutazon und vielen anderen Substanzen konnte vorallem durch zwei Methoden (Spreading-Test und Infusions-Test) nachgewiesen werden. M a t h i e s bediente sich zum Nachweis der Hyaluronidase-Hemmung des sogenannten Spreading-Tests. Zu bestimmten Zeiten nach Injektion bzw. Einwirkung der in Frage stehenden Substanzen setzte er den Versuchstieren intracutane Evansblue-Quaddeln mit oder ohne Zugabe von Hyaluronidase. Durch planimetrisches Ausmessen wurde die Ausbreitung des Farbstoffes festgestellt und aus der Größe der gefärbten Fläche der Grad der Hyaluronidase-Hemmung in Prozent berechnet; dabei wird die mittlere Fläche der reinen Farbstoffquaddel mit 100 % Hyaluronidase-Hemmung und jene der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel mit 0 % Hemmung bewertet. Durch statistische Berechnungen werden die erhaltenen Zahlen geprüft und gesichert. W i l h e l m i (5) machte sich die praktische Anwendungsform der Hyaluronidase als infusionsbeschleunigendes Mittel zu Nutze und versuchte zu einem Test mit der Möglichkeit einer genauen Messung der Menge der Infusionsflüssigkeit zu kommen. Er fand dabei den Kaninchenmuskel als geeigneten Infusionsort. Im einzelnen ging er wie folgt vor: In den rechten

und linken Rückenstrecker des narkotisierten Kaninchens wurde je eine Injektionskanüle eingelegt. Es konnten dadurch gleichzeitig zwei Meßwerte gewonnen werden. Dann wurde nach 15 Minuten festgestellt, wieviel Flüssigkeit (physiologischer Kochsalzlösung) eingelaufen war, sodann wurden 1,25 E. Hyaluronidase ("Kinetin" Schering) beiderseits oberhalb der Kanülen in die Zuleitungsschläuche injiziert. Die Präparate Phenylbutazon, Dipyrin, Natrium-Salicylat u.a. wurden für gewöhnlich 30 Minuten vor Versuchsbeginn intravenös injiziert. Es zeigte sich, daß die infusionsfördernde Wirkung der Hyaluronidase durch Phenylbutazon, Natrium-Salicylat u.a. antagonistisch beeinflußt wird.

L o t m a r (6) prüfte mit einer anderen Methode (Diffusionstest mit radioaktiv markierten Sulfationen an der Kaninchenhaut) die hyaluronidase-hemmende Wirkung verschiedener Antirheumatica: Phenylbutazon, Prednisolon und Moorbrei, sowie auch Adrenalin. Alle Substanzen verursachten eine signifikante Hyaluronidase-Hemmung. G i a l d r o n i und G r a s s i (7) stellten ebenfalls an Hand des Spreading-Tests eine mäßigstarke Hemmwirkung des Phenylbutazons gegenüber Hyaluronidase fest.

D o m e n j o z (8) arbeitete mit einer anderen Technik (Hyaluronidase-Ödem der Rattenpfote) und stimmt in den Untersuchungsergebnissen mit denen von M a t h i e s überein. M a t h i e s (9-11) hatte schon in früheren Arbeiten nach sc. bzw. im. Gabe von 1,2-Diphenyl-3,5-dioxo-4-n-butylpyrazolidin (Phenylbutazon, Butazolidin) eine Hemmung des durch Hyaluronidase gesteigerten Farbstoffspreading bei Ratten bzw. Menschen festgestellt. Von großer Bedeutung schien nun die Frage, ob auch bei percutaner Anwendung von Phenylbutazon ein brauchbarer Effekt im Sinne einer Hemmung der Hyaluronidaseaktivität zu erzielen ist. Die Untersuchungen von M a t h i e s (12-16) über hyaluronidase-hemmende Wirkung von Phenylbutazon, Salicylaten und auch von Moorbädern und der Nachweis, daß diese Hemmung letztlich auf eine erhöhte Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark zurückzuführen ist, ist für eine percutane Anwendung von Stoffen von großem Interesse. Es müssen von der

Haut also Substanzen resorbiert werden und auf dem Umweg über die Nebenniere als Hyaluronidase-Inhibitoren zur Wirkung kommen. In neueren Arbeiten von Mathies (17) konnte an Hand der Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading-Versuche beim Menschen und Ratten eine percutane Wirkung des Phenylbutazons gefunden werden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen geben besonders Auskunft über die quantitative Resorption des Phenylbutazons, das in Form einer Salbe appliziert wurde.

In der vorgelegten Arbeit wurde abzuklären versucht, inwieweit durch exakte Messung der durch Hyaluronidase beschleunigten subcutanen Infusionsvolumina eine Möglichkeit der Objektivierung der percutanen Phenylbutazoneinwirkung (Butazolidin-Salbe) beim Menschen besteht.

Eigene Versuche

Methodik

Es wurden vier männliche Versuchspersonen von etwa durchschnittlich 75 kg Gewicht für die laufenden Versuche verwendet. Dabei wurden an jedem Oberschenkel der Probanden getrennt dieselben Versuchsgänge in unterschiedlicher Reihenfolge durchgeführt. Um eine eventuelle unkoordinierte gegenseitige Beeinflussung der Wirkstoffe auszuschließen, wählten wir ein längeres Zeitintervall (8 Tage) zwischen den einzelnen Teilversuchen:

Einfache Infusion mit NaCl-Lösung

NaCl-Infusion nach Hyaluronidasegabe

NaCl-Infusion bei gleichzeitiger Salbenapplikation

NaCl-Infusion nach Hyaluronidase-Injektion und Salbenapplikation

Mittels einer scharfen und dünnen Kanüle Nr. 18, die streng subcutan im Winkel von etwa 20° 3 cm tief am Oberschenkel angelegt und mit Hansaplast fixiert wurde, erfolgte zuerst die Infusion der einfachen Kochsalzlösung (= Kontrollversuch). Bei allen Versuchen verwendeten wir das Infusionsgerät "Intrafix" WZ 67 2887 der Fa. Braun, Melsungen. Die Infusionshöhe wurde, konstant vom Flüssigkeitsspiegel der 100 ccm-Flasche bis zur

Injektionsstelle gerechnet, auf 110 cm festgelegt. Die Einlaufzeit der Kochsalzlösung (physiologisch) betrug bei allen Versuchen konstant 10 Minuten. Dabei wurde die Tropfenzahl, die pro Minute einlief, (die Abzählung erfolgte am Flüssigkeits-Luftniveau des Infusionsgerätes) registriert. Die infundierte Kochsalzmenge wurde als Tropfenzahl pro Minute registriert und anschließend das infundierte Gesamtvolumen in Gramm umgerechnet, wobei 100 Tropfen physiologischer Kochsalzlösung 5,8605 Gramm wogen.

Im zweiten Teil der Versuchsanordnung wurde durch die liegende, mit Hansaplast fixierte Kanüle zuerst Hyaluronidase gespritzt und dann die Kochsalzinfusionsflasche angeschlossen. Als Hyaluronidase bedienten wir uns des Präparates "Kinetin" Schering in Trockenampullen zu 150 I.E. gelöst in 1 cm³ physiologischer Kochsalzlösung. Für die Festlegung des Zeitabstandes von der Injektion bis zur Anlegung der Infusion waren zahlreiche Vorversuche notwendig. Am günstigsten erwies sich 1 Minute nach Hyaluronidaseinjektion, die Infusion mit physiologischer Kochsalzlösung anzuschließen.

Im dritten bzw. vierten Teil der Versuchsanordnung wurde auf dem Oberschenkel Butazolidin-Salbe appliziert und die Kochsalzlösung mit und ohne vorherige Hyaluronidase-Applikation infundiert. Dabei kombinierten wir die einzelnen Teilversuche immer so, daß an einem der beiden Oberschenkel keine Salbe appliziert wurde. Auf der Streckseite der Oberschenkel wurde auf einer Fläche von ungefähr 80 cm² (r = 5 cm) eine Menge von 25 - 30 g Butazolidin-Salbe 20 % R 1809 aufgetragen und leicht einmassiert, durchschnittlich also 6 g Phenylbutazon pro Versuch, was einer Applikation von ungefähr 80 mg/kg entspricht. In der Mitte dieser Fläche wurde ein Fünf-Markstück großes Areal freigelassen.

Daraufhin ließen wir die applizierte Salbenmenge dreißig Minuten einwirken. Bevor wir nun eine Kochsalzlösung subcutan infundierten, entfernten wir die über das Hautniveau hinausragenden kleinen Salbenrückstände mit Zellstoff. Im Bereich des salbenfreien Areals erfolgte die Injektion. Zur besseren Veranschaulichung der gefundenen Meßergebnisse wurden diese anschließend graphisch dargestellt.

Da Vorversuche ergaben, daß während der ersten beiden Minuten unmittelbar nach Injektion des Fermentes unbedeutende Einlaufgeschwindigkeitsschwankungen zu verzeichnen sind, wurde bei der graphischen Darstellung der Infusionsabläufe die Zahl der Tropfen nach der ersten Minute gleich dem Beginn der zeitlichen Messung gesetzt. Die Säulen in der graphischen Darstellung sollen die gesamte infundierte Kochsalzmenge in Abhängigkeit von Hyaluronidase und Salbenapplikation deutlich machen.

1. Versuchsreihe

Versuch a (graphische Darstellung = Abbildung 1)

Menge der effektiven Kochsalz-	Gesamt-	
	Tropfenzahl	Menge
Infusion	(209)	= 12,25 g
Infusion + Hyaluronidase	(402)	= 23,56 g
Infusion + Butazolidin-Salbe	(243)	= 14,24 g
Infusion + Hyaluronidase + Salbe	(268)	= 15,71 g

Zeit in Min.	T r o p f e n z a h l			
	Infusion	Inf.+Hyase	Inf.+Salbe	Inf.+Hyase+Salbe
1	18	42	27	28
2	18	40	22	27
3	20	40	23	26
4	20	40	23	26
5	20	41	24	27
6	22	40	24	26
7	23	40	25	27
8	22	40	25	27
9	22	39	25	27
10	24	40	25	27

Versuch b (graphische Darstellung = Abbildung 2)

Menge der effektiven Kochsalz-	Gesamt-	
	Tropfenzahl	Menge
Infusion	(231)	= 13,54 g
Infusion + Hyaluronidase	(295)	= 17,29 g
Infusion + Butazolidin-Salbe	(183)	= 10,72 g
Infusion + Hyaluronidase + Salbe	(274)	= 16,06 g

Zeit in Min.	T r o p f e n z a h l			
	Infusion	Inf.+ Hyase	Inf.+ Salbe	Inf.+Hyase+Salbe
1	23	28	18	27
2	22	29	19	28
3	22	30	18	29
4	23	30	18	28
5	25	29	18	27
6	24	30	18	27
7	22	30	18	27
8	23	30	18	27
9	23	30	19	27
10	24	29	19	27

2. Versuchsreihe

Versuch a (graphische Darstellung = Abbildung 3)

Menge der effektiven Kochsalz-	Gesamt-	
	Tropfenzahl	Menge
Infusion	(60)	= 3,52 g
Infusion + Hyaluronidase	(177)	= 10,37 g
Infusion + Butazolidin-Salbe	(126)	= 7,38 g
Infusion + Hyaluronidase + Salbe	(218)	= 12,78 g

Zeit in Min.	T r o p f e n z a h l			
	Infusion	Inf.+ Hyase	Inf.+ Salbe	Inf.+Hyase+Salbe
1	13	18	13	21
2	6	19	14	20
3	7	18	13	22
4	6	18	12	21
5	6	17	12	23
6	5	18	12	22
7	5	17	12	22
8	5	17	13	23
9	3	17	13	25
10	4	18	12	19

Versuch b (graphische Darstellung = Abbildung 4)

Menge der effektiven Kochsalz-	Gesamt-	
	Tropfenzahl	Menge
Infusion	(164)	= 9,61 g
Infusion + Hyaluronidase	(296)	= 17,35 g
Infusion + Butazolidin-Salbe	(181)	= 10,61 g
Infusion + Hyaluronidase + Salbe	(273)	= 16,01 g

Zeit in Min.	T r o p f e n z a h l			
	Infusion	Inf.+ Hyase	Inf.+ Salbe	Inf.+Hyase+Salbe
1	19	29	17	25
2	17	30	18	27
3	17	30	18	25
4	17	30	18	28
5	17	30	18	25
6	16	30	19	28
7	15	30	19	28
8	15	29	18	28
9	16	29	18	29
10	15	29	18	30

3. Versuchsreihe

Versuch a (graphische Darstellung = Abbildung 5)

Menge der effektiven Kochsalz-	Gesamt-	
	Tropfenzahl	Menge
Infusion	(153)	= 8,97 g
Infusion + Hyaluronidase	(178)	= 10,43 g
Infusion + Butazolidin-Salbe	(116)	= 6,79 g
Infusion + Hyaluronidase + Salbe	(218)	= 12,77 g

Zeit in Min.	T r o p f e n z a h l			
	Infusion	Inf.+ Hyase	Inf.+ Salbe	Inf.+Hyase+Salbe
1	20	15	5	24
2	15	18	4	21
3	15	18	9	21
4	15	18	15	22
5	15	18	14	21
6	15	18	14	22
7	15	18	14	21
8	15	18	14	22
9	13	19	14	22
10	15	18	13	22

Versuch b (graphische Darstellung = Abbildung 6)

Menge der effektiven Kochsalz-	Gesamt-	
	Tropfenzahl	Menge
Infusion	(128)	= 7,50 g
Infusion + Hyaluronidase	(260)	= 15,24 g
Infusion + Butazolidin-Salbe	(149)	= 8,73 g
Infusion + Hyaluronidase + Salbe	(224)	= 13,13 g

Zeit in Min.	T r o p f e n z a h l			
	Infusion	Inf.+ Hyase	Inf.+ Salbe	Inf.+Hyase+Salbe
1	14	25	14	23
2	13	27	14	22
3	14	26	15	23
4	13	26	16	23
5	13	26	15	22
6	13	26	15	23
7	12	26	15	21
8	12	26	15	22
9	12	26	15	22
10	12	26	15	23

4. Versuchsreihe

Versuch a (graphische Darstellung = Abbildung 7)

Menge der effektiven Kochsalz-	Gesamt-	
	Tropfenzahl	Menge
Infusion	(158)	= 9,26 g
Infusion + Hyaluronidase	(193)	= 11,31 g
Infusion + Butazolidin-Salbe	(121)	= 7,09 g
Infusion + Hyaluronidase + Salbe	(271)	= 15,88 g

Zeit in Min.	T r o p f e n z a h l			
	Infusion	Inf.+ Hyase	Inf.+ Salbe	Inf.+Hyase+Salbe
1	18	18	12	23
2	17	20	11	28
3	17	21	11	28
4	17	20	11	28
5	16	19	12	26
6	16	19	12	28
7	15	19	12	28
8	15	19	13	27
9	14	19	13	27
10	13	19	14	28

Versuch b (graphische Darstellung = Abbildung 8)

Menge der effektiven Kochsalz-	Gesamt-	
	Tropfenzahl	Menge
Infusion	(89)	= 5,21 g
Infusion + Hyaluronidase	(221)	= 12,95 g
Infusion + Butazolidin-Salbe	(149)	= 8,73 g
Infusion + Hyaluronidase + Salbe	(251)	= 14,71 g

Zeit in Min.	T r o p f e n z a h l			
	Infusion	Inf.+ Hyase	Inf.+ Salbe	Inf.+Hyase+Salbe
1	12	15	16	21
2	10	23	15	21
3	10	22	15	23
4	9	23	15	26
5	8	23	14	27
6	8	23	14	28
7	8	23	15	28
8	8	23	15	26
9	8	23	15	26
10	8	23	15	25

Die nachstehende Tabelle gibt eine Übersicht über die gesamte infundierte Tropfenzahl, wobei die jeweiligen Infusionsmengen vom rechten und linken Oberschenkel bei der gleichen Versuchsperson gegenübergestellt werden. Die Infusionszeit betrug bei allen Personen und Versuchen konstant 10 Minuten.

1. Versuchsperson

Gesamt - Tropfenzahl
 rechter Obersch. linker Obersch. Tropf.Diff.
 zw.re.u.li.Ob.

Infusion	209	231	- 22
Inf.+ Hyase	402	295	+ 107
Inf.+ Salbe	243	183	+ 60
Inf.+Hyase+Salbe	268	274	- 6

2. Versuchsperson

rechter Obersch. linker Obersch. Tropf.Diff.
 zw.re.u.li.Ob.

Infusion	60	164	- 104
Inf.+ Hyase	177	296	- 119
Inf.+ Salbe	126	181	- 55
Inf.+Hyase+Salbe	218	273	- 55

3. Versuchsperson

rechter Obersch. linker Obersch. Tropf.Diff.
 zw.re.u.li.Ob.

Infusion	153	128	+ 25
Inf.+ Hyase	178	260	- 82
Inf.+ Salbe	116	149	- 33
Inf.+Hyase+Salbe	218	224	- 6

4. Versuchsperson

rechter Obersch. linker Obersch. Tropf.Diff.
 zw.re.u.li.Ob.

Infusion	158	89	+ 69
Inf.+ Hyase	193	221	- 28
Inf.+ Salbe	121	149	- 28
Inf.+Hyase+Salbe	271	251	+ 20

Ergebnisse der Versuchsreihen

Da Hyaluronidase bekanntlich die Gewebspermeabilität erhöht, so war in den Versuchen nach Hyaluronidasebeigabe ein rascheres bzw. volumenmäßig gesteigertes Einlaufen der Kochsalzlösung zu erwarten, als in den Kontrollversuchen mit einfacher Kochsalzlösung. Dieser Effekt ließ sich auch tatsächlich bei allen Versuchen nachweisen.

Im folgenden werden noch vergleichend untersucht:

1. Die Infusionsmenge bei Hyaluronidasegabe und Salbenapplikation gegenüber der Infusionsmenge bei Hyaluronidasegabe allein;
2. Die Infusionsmenge nach Salbenapplikation gegenüber der Infusionsmenge der einfachen Kochsalzinfusion.

Versuch 1 a: Abb. 1

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß die Hyaluronidase die Kochsalzinfusionsmenge wesentlich erhöht. Wie oben bereits erwähnt, ließ sich dieser Effekt bei allen Versuchspersonen nachweisen und wird deshalb bei der folgenden Beschreibung der einzelnen Versuchsergebnisse ausser acht gelassen.

In diesem Versuch ist eine deutliche Verminderung der Einflusmenge der Infusion mit Hyaluronidase und Salbenapplikation gegenüber der Menge der Infusion mit Hyaluronidase festzustellen. Die Menge der Infusion bei Salbenapplikation ist etwas größer als die reine Kochsalzinfusionsmenge.

Versuch 1 b: Abb. 2

Das Einflusvolumen der Infusion mit Hyaluronidase und Salbenapplikation ist kleiner als das der Infusion mit Hyaluronidase. Die Infusionsmenge bei Salbenapplikation ist gegenüber der einfachen Infusionsmenge erniedrigt.

Versuch 2 a: Abb. 3

In diesem Versuch ist die Menge der Infusion mit Hyaluronidase und Salbenapplikation größer als die der Infusion mit Hyaluronidase. Die Infusion bei Salbenapplikation liegt mengenmäßig bedeutend höher als die einfache Kochsalzinfusion.

Versuch 2 b: Abb. 4

Im vorliegenden Fall ist eine geringe Volumenverminderung der Infusion mit Hyaluronidase und Salbenapplikation gegenüber der Infusion mit Hyaluronidase festzustellen. Bei der einfachen Kochsalzinfusion sieht man eine minimale mengenmäßige Steigerung nach Salbenauftragung (Kochsalzinfusion + Salbenapplikation).

Versuch 3 a: Abb. 5

Man kann in diesem Versuch einen Volumenanstieg der Infusion mit Hyaluronidase und Salbenapplikation im Vergleich mit der Infusion bei Hyaluronidasegabe feststellen. Die Menge der Infusion bei Salbenapplikation ist gegenüber der Kochsalzinfusionsmenge kleiner.

Versuch 3 b: Abb. 6

Die Mengenwerte der Infusion mit Hyaluronidase und Salbenapplikation liegen in diesem Fall unter denen der Infusion mit Hyaluronidase. Bei der Infusion und Salbenapplikation kann man eine Volumenerhöhung gegenüber der einfachen Infusion feststellen.

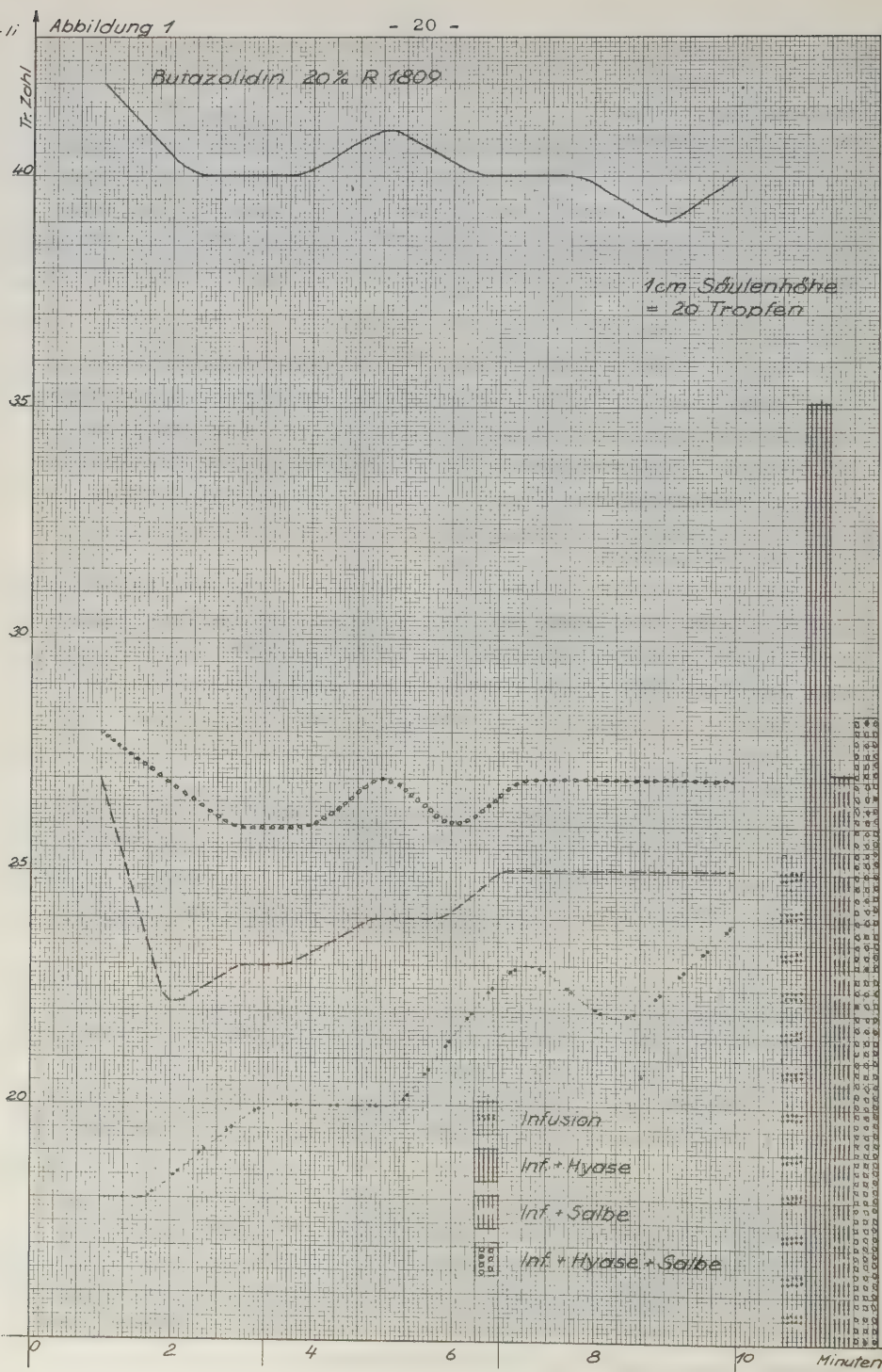
Versuch 4 a: Abb. 7

An Hand dieser Ergebnisse ist eine mengenmäßige Steigerung der Infusion mit Hyaluronidase und Salbenapplikation gegenüber der Infusion mit Hyaluronidase zu verzeichnen. Die Menge der Infusion bei Salbenapplikation ist kleiner als die der einfachen Kochsalzinfusion.

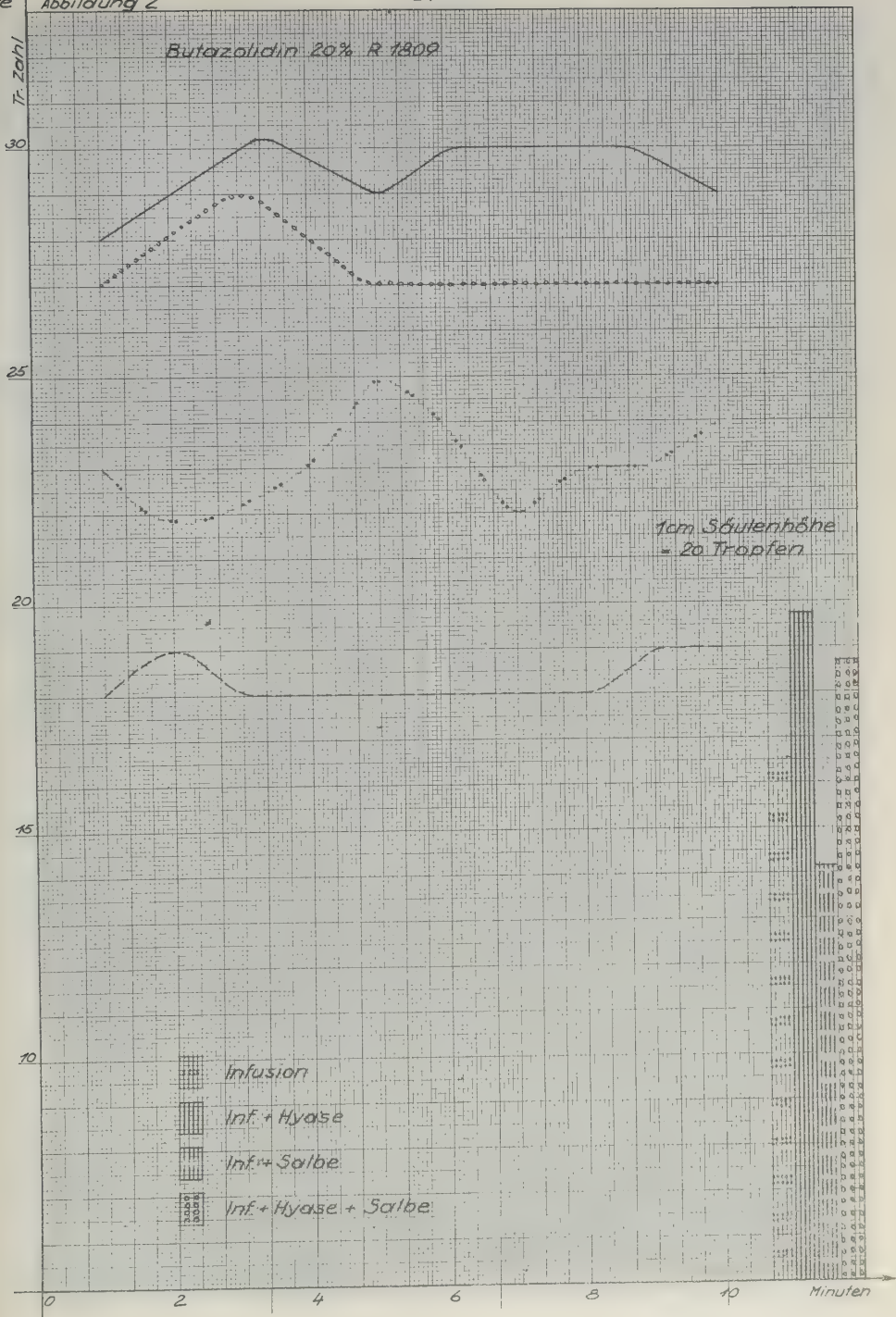
Versuch 4 b: Abb. 8

Auch in diesem Fall ist die Menge der Infusion mit Hyaluronidase und Salbenapplikation größer als die der Infusion mit Hyaluronidase. Nach Salbenapplikation (Infusion + Salbenapplikation) kann man eine Steigerung der Kochsalzinfusionsmenge feststellen.

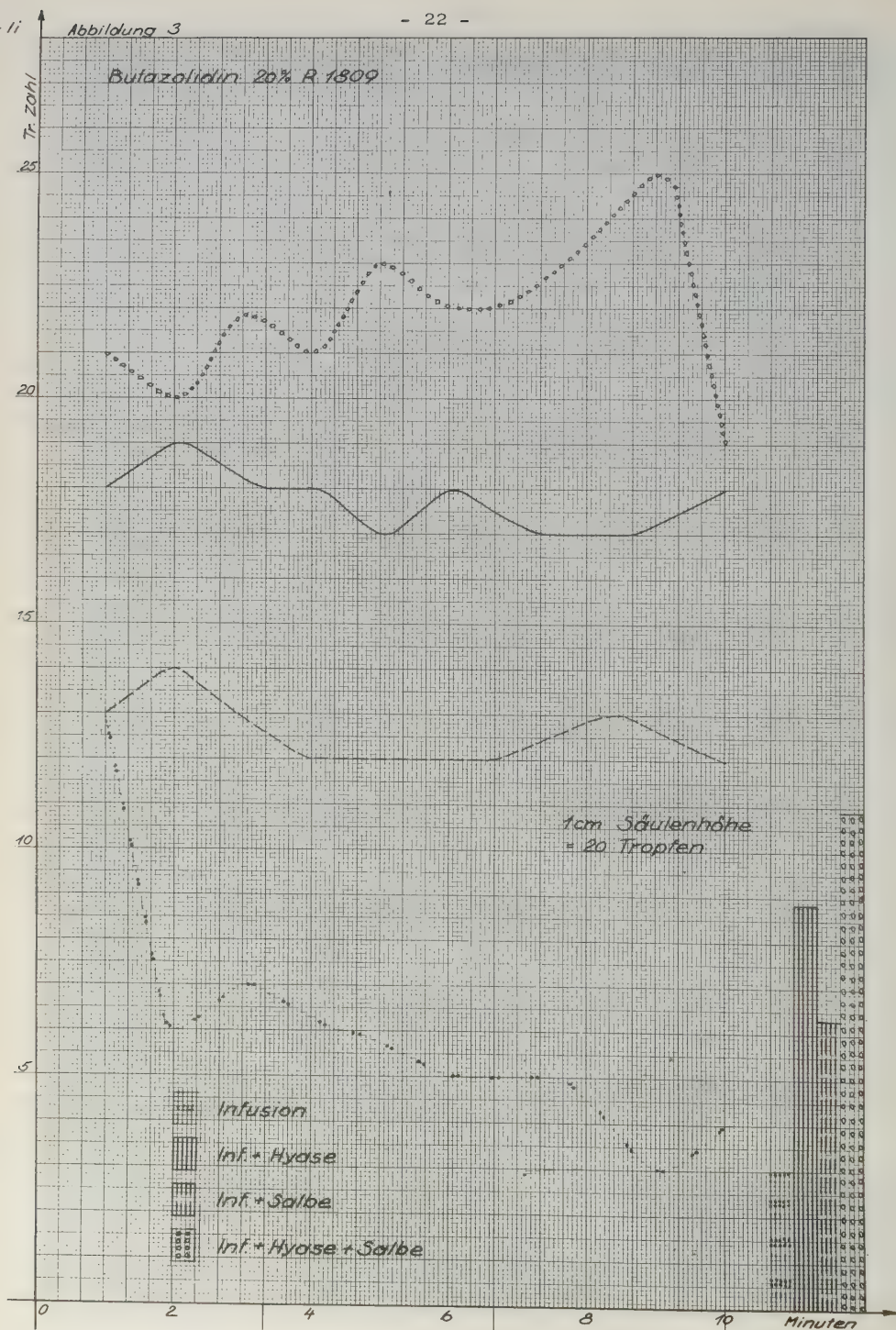
Unterzieht man die einzelnen Infusionen in ihrem zeitlichen Ablauf (Kurven) einer genaueren Betrachtung, so findet man sehr verschiedene Kurvenverläufe, sowohl bei denselben Infusionen an der gleichen Person, als auch beim Vergleich derselben Infusion zwischen den einzelnen Versuchspersonen.

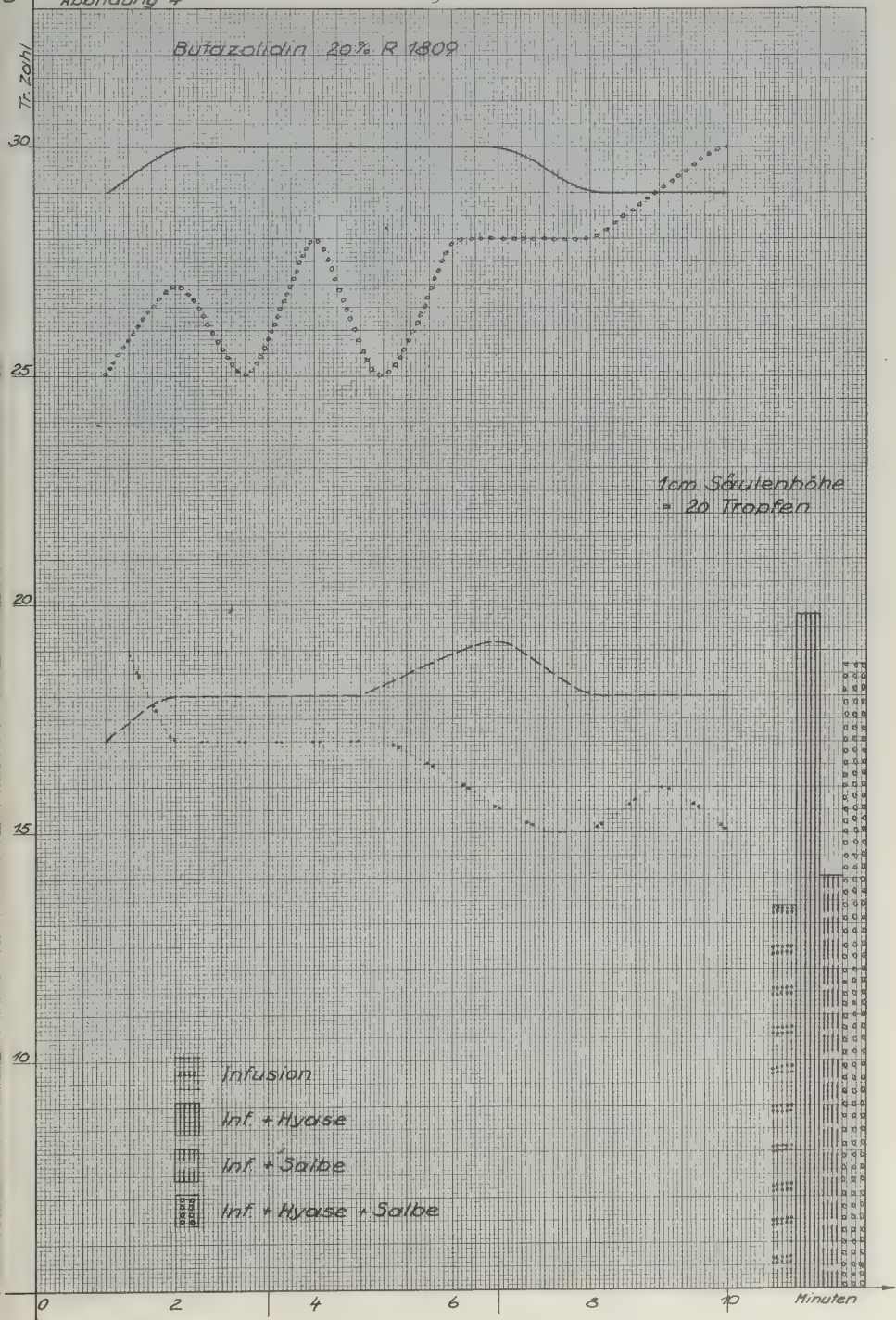


Butazolidin 20% R 1809

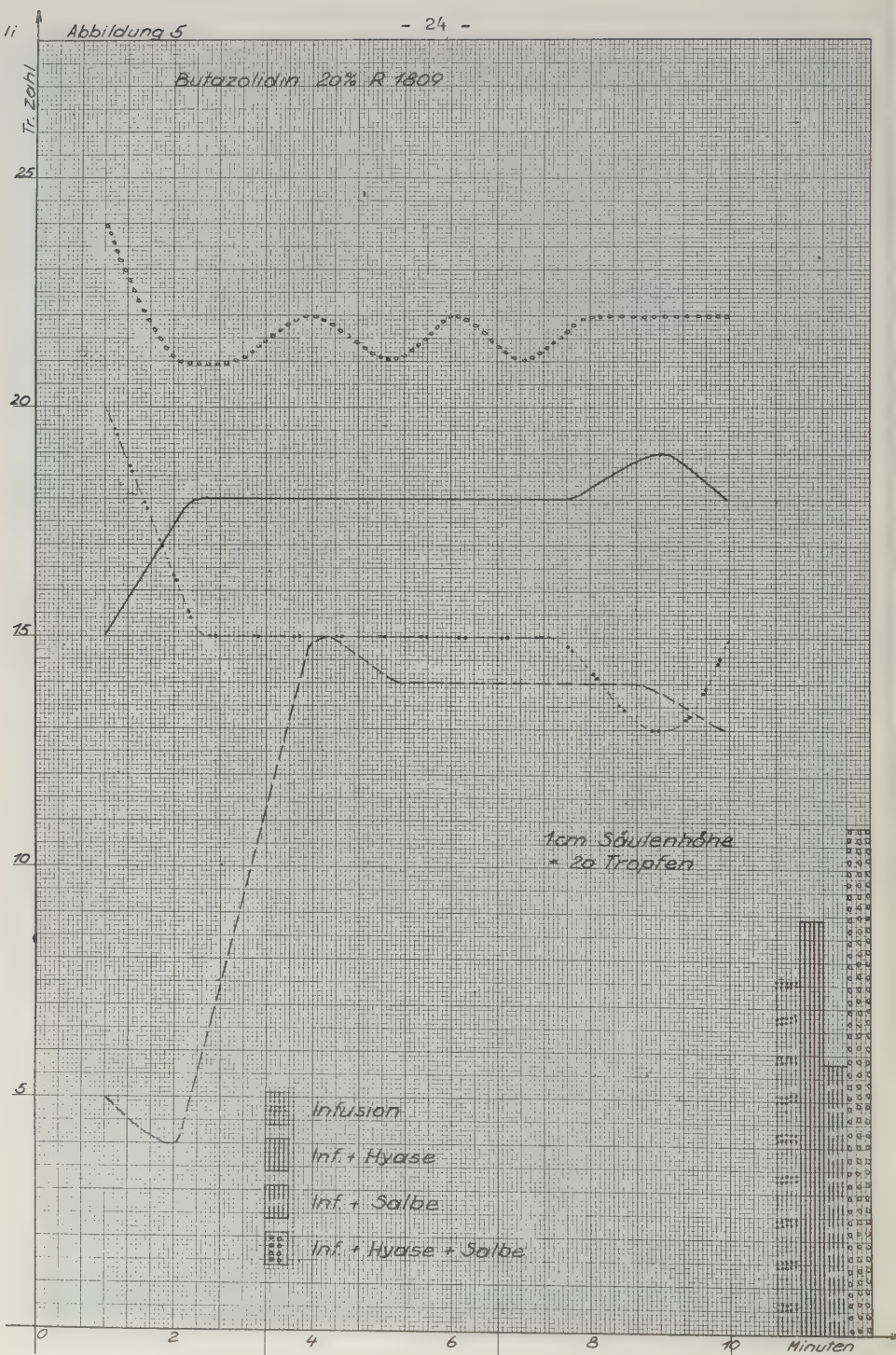


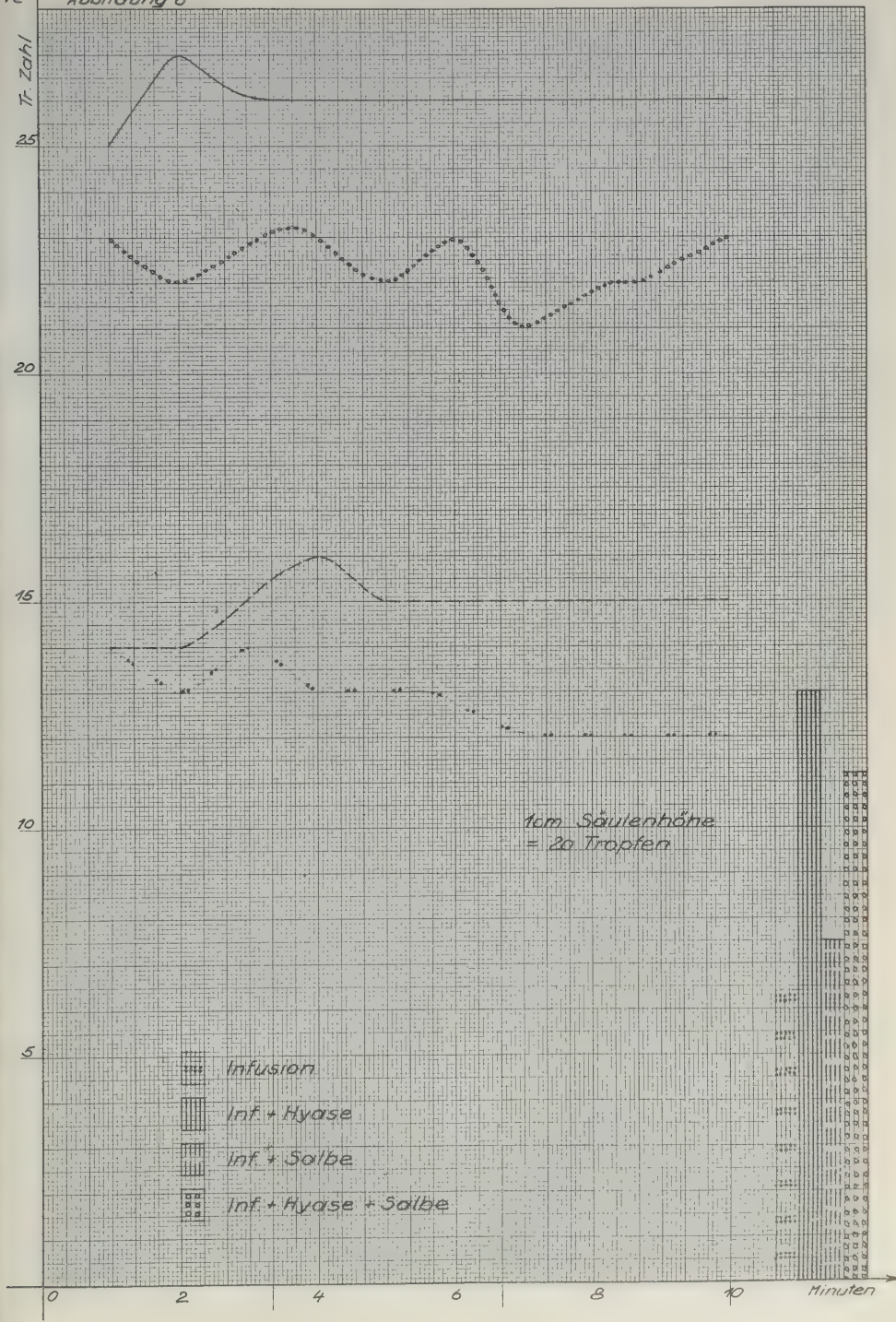
Butazolidin 20% R 1809

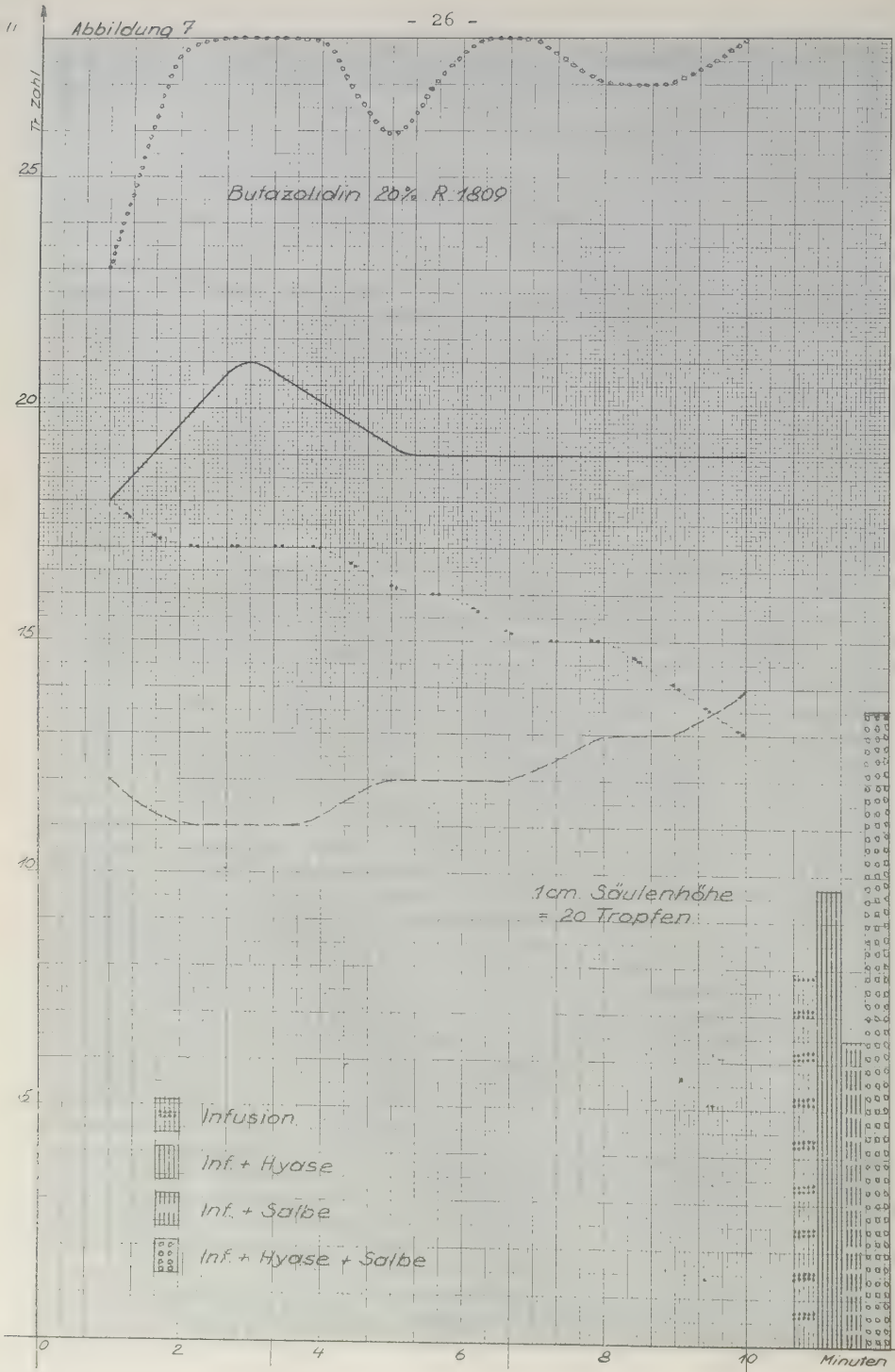


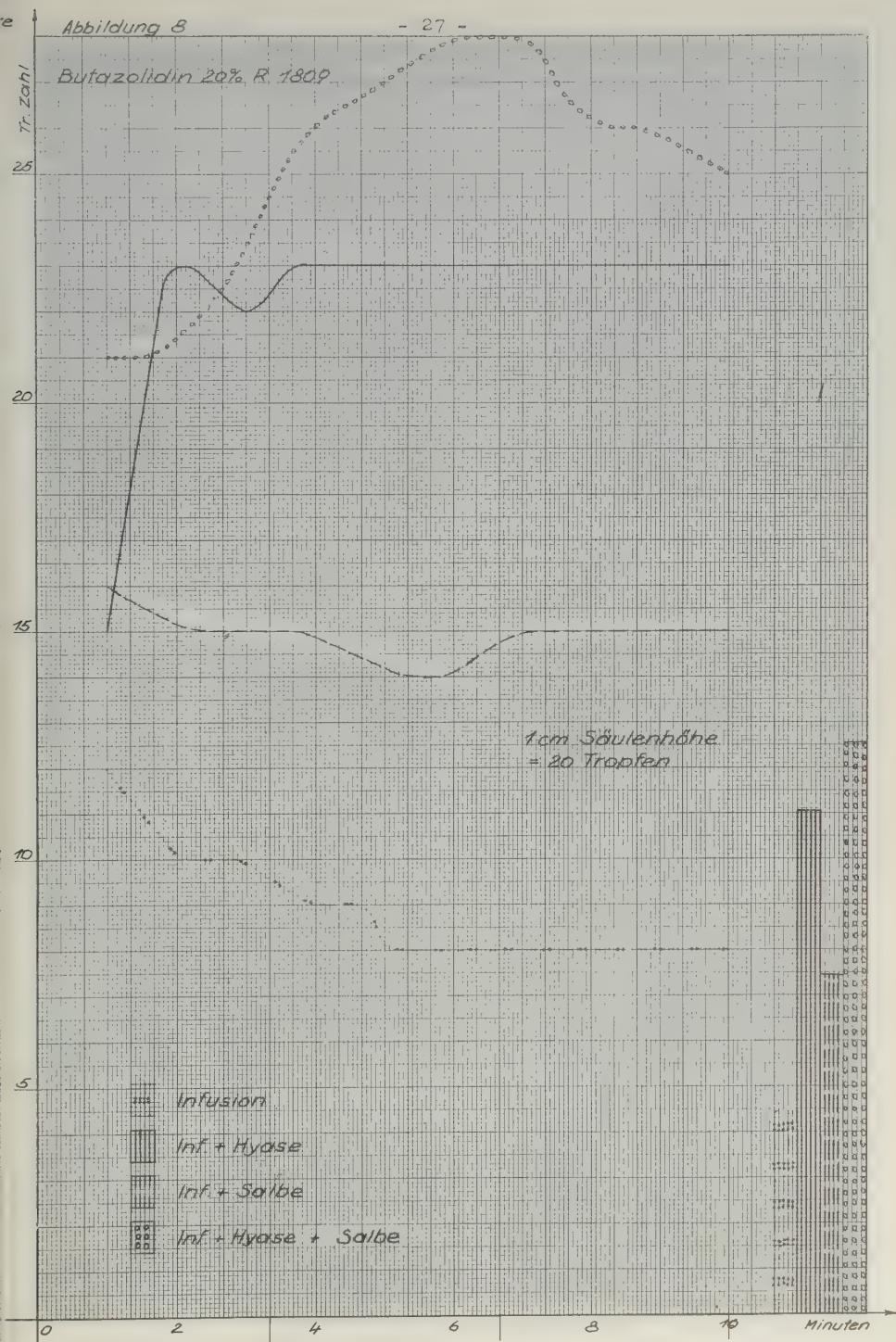


Butazolidin 20% R 1809



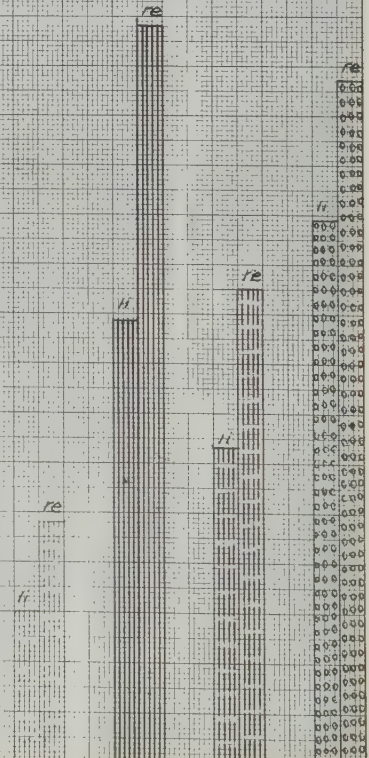
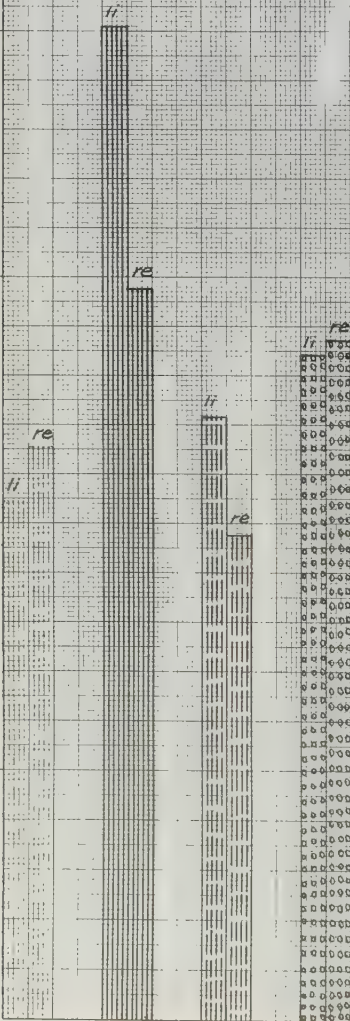






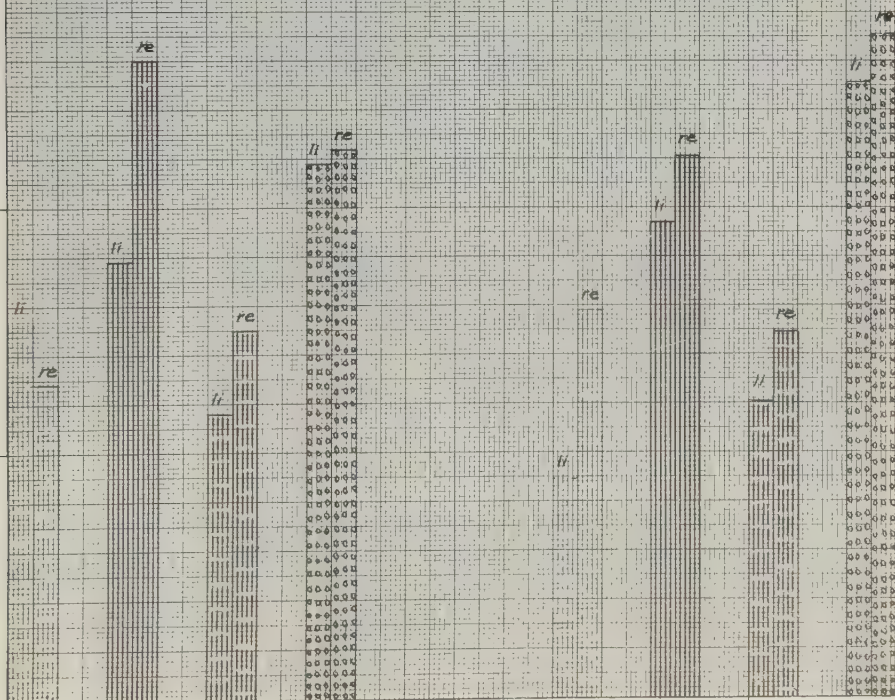
1. Versuchsperson

2. Versuchsperson



3. Versuchsperson

4. Versuchsperson



Auswertung der Versuchsergebnisse

Zieht man zur Klärung und Beantwortung der Frage nach dem Einfluß der Butazolidinsalbe auf die Hyaluronidase die Mittelwerte der Verhältniszahlen der Infusionsvolumina von Hyaluronidase zu Hyaluronidase + Salbe heran, und zwar bei allen Versuchspersonen, so kommt man zu dem Ergebnis, daß sogar eine Erhöhung der Infusionsmenge bei Hyaluronidasezusatz und Salbenapplikation um 4,88 % festzustellen ist.

Bei der Untersuchung der Mittelwerte der Verhältniszahlen von Infusion zu Infusion + Salbe bei allen vier Versuchspersonen findet man, daß die Butazolidinsalbe die einfache Kochsalzinfusionsmenge um 19 % erhöht. Diese Ergebnisse geben aber nur indirekt die tatsächlich gefundenen Verhältnisse bei den einzelnen Infusionsabläufen und Personen wieder.

So muß nach einer Methode der Objektivierung der gefundenen Meßergebnisse, soweit dies auf Grund der maximal differierenden Werte überhaupt möglich ist, gesucht werden.

Am zweckmäßigsten erscheint es daher, von der Forderung auszugehen, daß die einzelnen Infusionsabläufe in einem annähernd konstanten Verhältnis zueinander stehen sollten, z.B. Infusion zu Infusion + Hyaluronidase. Es müßten somit die Verhältniszahlen daraus bei ein und derselben Versuchsperson (beide Oberschenkel - dieselben Versuchsreihen) auch die geringste Fehlerbreite aufweisen.

Im einzelnen werden nun die Verhältniszahlen bei derselben Versuchsperson, rechten und linken Oberschenkel vergleichend, aufgestellt. (Hyase = Hyaluronidase).

- 1) Infusion zu Infusion + Hyase
- 2) Infusion zu Infusion + Salbe
- 3) Infusion zu Infusion + Hyase + Salbe
- 4) Infusion + Hyase zu Infusion + Hyase + Salbe.

Dann werden die Verhältniszahlen der gleichen Infusionsabläufe am rechten und linken Oberschenkel bei derselben Versuchsperson gebildet:

- 1) Infusion zu Infusion (rechter bzw. linker Oberschenkel)
- 2) Infusion + Hyase zu Infusion + Hyase
- 3) Infusion + Salbe zu Infusion + Salbe
- 4) Infusion + Hyase + Salbe zu Infusion + Hyase + Salbe.

Diese Untersuchungen werden an Hand einer Fehlerrechnung durchgeführt. Das Prinzip dieser Fehlerrechnung sei deshalb kurz dargelegt. Zuerst werden die Zahlen, die das Verhältnis der einzelnen Einflußvolumina zueinander angeben, gebildet. Dann wird daraus der Mittelwert dieser Zahlen aufgestellt.

Im folgenden:

Bestimmung der Abweichungen der Verhältniszahlen vom Mittelwert.

Bildung der Quadrate der Abweichungen.

Summe der Quadrate durch $n-1$ dividieren.

Nach Wurzelziehen aus der Summe der Quadrate bekommt man den mittleren Fehler der Einzelwerte.

Nach Dividieren des mittleren Fehlers der Einzelmessungen durch $\sqrt{n}$ bekommt man den mittleren Fehler des Mittelwertes (=absoluter Fehler).

Das Verhältnis vom absoluten Fehler zum Mittelwert wird in Prozent (%) durch den relativen Fehler ausgedrückt. Die folgende Tabelle zeigt, wie groß der relative Fehler in Prozent, an Hand des Verhältnisses der Infusionskombinationen, zwischen rechtem und linkem Oberschenkel der gleichen Versuchsperson, ist.

Relativer Fehler in %

I = Infusion

H = Hyaluronidase

S = Salbe

	$\frac{I}{I + H}$	$\frac{I + H}{I + H + S}$	$\frac{I}{I + S}$	$\frac{I}{I + H + S}$
1. Vers. Pers.	20 %	16,3 %	18,9 %	3,7 %
2. Vers. Pers.	24,5 %	14,7 %	31,8 %	30,4 %
3. Vers. Pers.	28,2 %	17,2 %	21,1 %	9,4 %
4. Vers. Pers.	34,4 %	10,7 %	39,4 %	26,1 %

Vergleicht man nun bei derselben Versuchsperson die einzelnen (gleichen) Infusionsabläufe zwischen rechtem und linkem Oberschenkel:

Infusion zu Infusion

Infusion + Hyase zu Infusion + Hyase

Infusion + Salbe zu Infusion + Salbe

Infusion + Hyase + Salbe zu Infusion + Hyase + Salbe,

so ergibt sich folgender relativer Fehler:

1. Vers. Person: 10,35 %

2. Vers. Person: 14,42 %

3. Vers. Person: 12,45 %

4. Vers. Person: 19,58 %.

An Hand der Ergebnisse der Fehlerrechnung kann gezeigt werden, wie groß die Fehlerbreite der einzelnen Infusionsabläufe bei der gleichen und bei den vier Versuchspersonen untereinander ist. Vergleicht man nämlich dieselben Infusionsabläufe, Infusion - Infusion, Infusion + Hyase - Infusion + Hyase, Infusion + Salbe - Infusion + Salbe, Infusion + Hyase + Salbe - Infusion + Hyase + Salbe, bei der gleichen Versuchsperson, so muß gefordert werden, daß die Meßwerte wegen der gleichen Versuchsbedingungen (rechter bzw. linker Oberschenkel können hier als gleiche Versuchsbedingungen gewertet werden) innerhalb einer minimalen Fehlerbreite liegen.

Zieht man den relativen Fehler, für die Beurteilung dieser gleichen Infusionsabläufe an derselben Person, heran, so ergibt sich ein Unterschied bei der ersten Versuchsperson zwischen rechts und links von 10,35 % (als Minimum), bei der vierten Versuchsperson ein Unterschied von 19,58 % (als Maximum). Weiterhin kann als Beweis für die große Fehlerbreite der Methode, der Vergleich der einzelnen Infusionskombinationen zueinander angeführt werden. Nach Hyaluronidasebeigabe fand man bei den einfachen Kochsalzinfusionen eine mengenmäßige Steigerung. Der Grad der Steigerung war aber sowohl bei derselben Versuchsperson, als auch bei den Versuchspersonen untereinander sehr unterschiedlich. So ergibt sich nach Hyaluronidasegabe eine unterschiedliche Steigerung

zwischen rechtem und linkem Oberschenkel derselben Versuchsperson von 20 % (als Minimum) bei der ersten, und 34,4 % (als Maximum) bei der vierten Versuchsperson. Untersucht man in analoger Weise die Infusionen mit Hyaluronidase und Salbenapplikation, so findet man einen Unterschied zwischen rechtem und linkem Oberschenkel derselben Versuchsperson von 10,7 % (Minimum) bei der vierten Versuchsperson, und 17,2 % (Maximum) bei der dritten Versuchsperson.

Die große Fehlerbreite der Methodik kann auch bei der Untersuchung der Salbenwirkung auf die einfache Kochsalzinfusion sowie nach Hyasegabe gezeigt werden.

Die relativen Fehler der Infusionsabläufe nach Salbenapplikation schwanken zwischen rechtem und linkem Oberschenkel bei der gleichen Versuchsperson zwischen 18,9 % (als Minimum bei der ersten Versuchsperson) und 39,4 % (als Maximum bei der vierten Versuchsperson). Gibt man nun zur Infusion nach Salbenauftragung Hyaluronidase, so beträgt die Fehlerschwankung zwischen rechts und links bei derselben Versuchsperson 3,7 % (als Minimum bei der ersten Versuchsperson) und 30,4 % (als Maximum bei der zweiten Versuchsperson).

Aus diesen Ergebnissen ist die große Fehlerbreite der Methodik ersichtlich. Es kann aber daraus im Endergebnis keine Aussage über den Einfluß der Butazolidinsalbe auf die Hyaluronidase und Kochsalzlösung gemacht werden.

Zu einem brauchbaren Ergebnis kommt man erst dann, wenn die Versuchsergebnisse insgesamt, d.h. von allen Versuchspersonen, einer genauen Prüfung unterzogen werden.

Zuerst werden die Zahlenreihen der reinen Kochsalzinfusionen (= Kontrollversuche), bei allen Versuchspersonen, aufgestellt und daraus der relative Fehler ermittelt. Dieser beträgt für die einfache Infusion bei allen vier Probanden 13,48 %.

Im folgenden wird die Wirkung der Butazolidinsalbe auf die einfache Kochsalzinfusion und die Wirkung der Salbe auf die Hyaluronidase, bei allen vier Versuchspersonen, untersucht.

In der nachstehenden Tabelle sind ausser dem relativen Fehler auch der Mittelwert der Verhältniszahlen der Infusionskombinationen aufgeführt.

I = Infusion

H = Hyaluronidase

S = Butazolidinsalbe

	relativer Fehler	Mittelwert
IS/I	12,95 %	1,19
IHS/IH	7,60 %	1,0488

Eine Antwort auf die im Thema dieser Arbeit gestellten Frage, welchen Einfluß die Butazolidinsalbe auf die Infusionsgeschwindigkeit mit und ohne Hyaluronidase hat, kann aus obiger Tabelle gegeben werden. Bei Betrachtung der Ergebnisse der Versuche im Gesamten besagt der Mittelwert von $I+S/I = 1,19$, daß nach Salbenapplikation 1,19 mal mehr Kochsalzlösung infundiert wurde, als bei der einfachen Infusion. Das entspricht einer Erhöhung der Kochsalzinfusionsmenge bei Salbenapplikation um 19 %, wie einleitend bereits angeführt wurde.

Dieses Ergebnis kann erst dann richtig bewertet werden, wenn man den relativen Fehler zur Objektivierung dieses Wertes heranzieht. Es besteht somit eine Erhöhung der NaCl-Infusionsmenge von:

$$19 \% \pm 12,95 \%$$

(Die erste Zahl dieser physikalischen Schreibweise ist das Ergebnis der Messung, die zweite die Streuung der dabei unterlaufenen Fehler). Nun ist die Größe des Fehlers fast mit der Größe der Meßwert-Differenzen identisch. Dazu kommt noch der Fehler der Kontrollversuche von 13,48 %.

Die Summe der zwei Fehlerwerte - 26,43 % - übersteigt wesentlich den Ergebniswert ($19 \% \pm 26,43 \%$), so daß er in der Streuung der Fehler der Messungen verlorenggeht und nicht gewertet werden kann.

Nun wird die Wirkung der Salbe auf die Hyaluronidase ebenfalls bei allen Versuchspersonen untersucht.

Die Salbenwirkung wird aus dem Mittelwert von

$$IHS/IH = 1,0488$$

deutlich.

Daraus ergibt sich eine Steigerung der Infusionsmenge bei Hyaluronidasegabe und Salbenapplikation um 4,88 %.

Nach dem gleichen Prinzip der Auswertung dieses Ergebnisses wie oben, kann die Wirkung der Salbe auf die Hyaluronidase folgendermaßen aufgeschrieben werden.

$$4,88 \% \pm 7,60 \%$$

Man sieht, daß der Ergebniswert in den Bereich der Fehlergröße fällt. Dieses Ergebnis wird noch deutlicher, wenn man den relativen Fehler der Kontrollversuche mit in Betracht zieht.

Dann beträgt der Fehler der Messung 21,08 % gegenüber der Größe des Meßwertes von 4,88 %; also

$$4,88 \% \pm 21,08 \%$$

Zusammenfassend kann also gesagt werden:

Eine Wirkung der Butazolidinsalbe auf die einfache Kochsalzinfusion kann nicht nachgewiesen werden, da die bei den Versuchen unterlaufenen Fehler (26,43 %) sogar etwas größer sind, als das Ergebnis der Messung (19 %)

$$19 \% \pm 26,43 \%$$

Bei der Untersuchung der Salbenwirkung auf die Hyaluronidase wird die große Fehlerbreite sogar noch deutlicher (4,88 % $\pm$ 21,08 %), so daß auch hier keine Aussage über die Wirkung der Butazolidinsalbe auf die Hyaluronidase gemacht werden kann.

D i s k u s s i o n

Die Versuchsergebnisse der vorgelegten Arbeit haben gezeigt, daß mit der beschriebenen Methode eine Wirkung von Phenylbutazon, bei percutaner Applikation in Form einer Salbe, auf die Kochsalzlösung mit und ohne Hyaluronidase, auf Grund der differierenden Versuchsergebnisse, nicht mit Sicherheit festzustellen ist.

W i l h e l m i u n d P u l v e r (18) stellen in einer grundlegenden Arbeit fest, daß Phenylbutazon bei lokaler Anwendung auch einen wirksamen Effekt aufweist, ohne daß eine mit den derzeitigen (1957) Bestimmungsmethoden nachweisbare Blutkonzentration vorliegen muß. W i l h e l m i (5) wies bereits auf die Schwierigkeiten einer subcutanen Infusion bei verschiedenen Tieren und der davon abhängigen sich widersprechenden Versuchsergebnissen hin. So betonte er, daß Vorversuche an der Subcutis von Tieren große individuelle Unterschiede ergaben, die nach seiner Meinung auf die ungleiche Beschaffenheit des Unterhautgewebes zurückzuführen sind. Er wählte daher als Infusionsort den Muskel (Kaninchen). Wegen der Schmerzhaftigkeit des durch Hyaluronidase erzeugten Infusions-Ödem im Muskel, konnte diese Methode beim Menschen nicht angewandt werden. P o r z e l (19) ist der Ansicht, daß bei einmaliger Einreibung der Phenylbutazonsalbe, der verschiedene Fett- und Feuchtigkeitsgehalt der Haut die unterschiedliche Resorption des Phenylbutazons durch die Haut bedingen. Erst bei mehrmaliger Applikation der Salbe kommt es dann zur Aufnahme der notwendigen Menge des Wirkstoffes. Abschließend kann gesagt werden, daß die unterschiedlichen Ergebnisse in den Einzelversuchen der der Methodik anhaftenden Fehlerbreite zuzuschreiben sind.

Zusammenfassung

Mit einer neuen Methode (subcutane Kochsalz-Infusion nach percutaner Phenylbutazonapplikation am Menschen) wurde die percutane Wirkung von Phenylbutazon geprüft. Es konnte dabei eine hemmende Wirkung des Phenylbutazons weder auf die reine noch auf die durch Hyaluronidase beschleunigte Kochsalzinfusion im Endergebnis festgestellt werden.

Die angegebene Methode stellte sich als nicht geeignet heraus für die Prüfung der Wirkung der Hyaluronidase- und Kochsalzhemmung bei percutaner Applikation des Phenylbutazons.

Literaturverzeichnis

- 1) Hoffman, D.C., u. F. Duran-Reynals, Science 72, 508 (1930)
- 2) Chain und Duthie: zit. nach Breu, W: Wien Med. Wschr. 102:
435 1952
- 3) Mathies, H.: Zschr. Rheumaforsch. 18, 205 (1959)
- 4) Mathies, H.: Pharmazie 14, 429 (1959)
- 5) Wilhelmi, G., Helvet. physiol. pharmacol. acta 14 C, 47 (1956)
- 6) Lotmar, R.: Zschr. f. Rheumaforschung Band 19, Heft 1/2 (1960)
- 7) Gialdroni, G. e Grassi, C.: Boll. Soc.ital.Biol.sper. 28, 1580
(1952)
- 8) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 225, 14 (1955)
- 9) Mathies, H., Biechele, I. u. Hartmann, M., Ärtzl. Forsch.
14, I/160 (1960)
- 10) Mathies, H. u. Scholze, H., Arzneim.-Forsch. 12 79 (1962)
- 11) Mathies, H. u. Vogel, M., Zschr. ges. exp. Med. 133, 32 (1960)
- 12) Mathies, H. und Jankowski, A.: Kl. Wschr., 35, 892 (1957)
- 13) Mathies, H. und Werther, G. v.: Zschr. angew. Bäder- u.
Klimahk., 5, 503 (1958)
- 14) Mathies, H. und Werther, G. v.: Zschr. angew. Bäder- u.
Klimahk., 5, 582 (1958)
- 15) Mathies, H.: Zschr. ges. exper. Med. 131, 118 (1959)
- 16) Mathies, H.: Zschr. f. Rheumaforschung 18, 308 (1959)
- 17) Mathies, H.: Arzneim.-Forsch. 13, 805 - 809 (1963)
- 18) Wilhelmi, G. und Pulver, R.: Schweiz. med. Wschr. Beiheft
zu Nr. 24, 87 (1957) 735
- 19) Porzel, H.: Arzneim.-Forsch. 13, 809 - 812 (1963)

Herrn Professor Dr. W. Seitz danke ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas. Herrn Dr. H. Mathies möchte ich für die Anregung zu dieser Arbeit danken. Fräulein Schüle bin ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche dankbar.

Am 8.2.1939 wurde ich in Predling/Bayern geboren. In Loh/Deggen-
dorf besuchte ich die Volksschule. 1958 absolvierte ich am
Deutschen Gymnasium in Niederalteich die höhere Schule.
Anschließend begann ich in München Medizin zu studieren.
1961 bestand ich die ärztliche Vorprüfung in München. Meine
klinischen Semester verbrachte ich ebenfalls an der Ludwig-
Maximilian-Universität in München. Am 15.12.1964 beendete
ich das Staatsexamen.

